

Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DES

PRINCIPES ACTIFS DES CAPSULES SURRÉNALES

THÈSE

PRÉSENTÉE POUR LE DOCTORAT A L'UNIVERSITÉ DE LYON

(Section de Pharmacie)

ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT DEVANT LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

Le 9 juillet 1904

PAR

Antoine FAYOL

Pharmacien de 1^{re} classe

Ex-préparateur de matière médicale et botanique

Pharmacien-adjoint lauréat des Hôpitaux de Lyon

Préparateur de clinique médicale

Né à Reignat (Puy-de-Dôme), le 2 avril 1879.



LYON

A. STORCK & C^{ie}, IMPRIMEURS-ÉDITEURS

8, rue de la Méditerranée

—
1904



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DES

PRINCIPES ACTIFS DES CAPSULES SURRÉNALES

THÈSE

PRÉSENTÉE POUR LE DOCTORAT A L'UNIVERSITÉ DE LYON

(Section de Pharmacie)

ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT DEVANT LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

Le 9 juillet 1904

PAR

Antoine FAYOL

Pharmacien de 1^{re} classe

Ex-préparateur de matière médicale et botanique

Pharmacien-adjoint lauréat des Hôpitaux de Lyon

Préparateur de clinique médicale

Né à Reignat (Puy-de-Dôme), le 2 avril 1879.



LYON

A. STORCK & C^{ie}, IMPRIMEURS-ÉDITEURS

8, rue de la Méditerranée

—
1904

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. LORTET. DOYEN.
HUGOUNENQ ASSESSEUR.

Professeurs honoraires

MM. PAULET, CHAUVEAU

Professeurs

MM.

Cliniques médicales.	LÉPINE.
	BONDET.
	BARD.
	PONCET.
Cliniques chirurgicales.	JABOULAY.
	X.
Clinique obstétricale et Accouchements	GAYET.
Clinique ophtalmologique.	GAILLETON.
Cliniques des maladies cutanées et syphilitiques.	PIERRET.
Clinique des maladies mentales.	WEILL.
Clinique des maladies des enfants.	MONOYER.
Physique médicale	HUGOUNENQ.
Chimie médicale et pharmaceutique.	CAZENEUVE.
Chimie organique et Toxicologie	BEAUVISAGE.
Matière médicale et Botanique.	LORTET.
Parasitologie	TESTUT.
Anatomie.	RENAUT.
Anatomie générale et Histologie.	MORAT.
Physiologie.	TEISSIER.
Pathologie interne	AUGAGNEUR.
Pathologie externe	MAYET.
Pathologie et Thérapeutique générales.	TRIPPIER.
Anatomie pathologique.	POLLOSSON (Maurice).
Médecine opératoire	ARLOING.
Médecine expérimentale et comparée	LACASSAGNE.
Médecine légale.	COURMONT (J.).
Hygiène	SOULIER.
Thérapeutique	FLORENCE.
Pharmacologie.	

Professeur adjoint

Physiologie, cours complémentaire DOYON.

Chargés de cours complémentaires

Clinique des maladies des femmes.	MM. POLLOSSON (A.), agrégé.
Maladies des voies urinaires	CHANDELUX. —
Maladies des oreilles, du nez et du larynx	LANNOIS. —
Propédeutique médicale	ROQUE. —
Propédeutique chirurgicale.	ROLLET. —
Propédeutique de gynécologie	CONDAMIN. —
Anatomie pathologique.	DEVIC. —
Accouchements.	FABRE. —
Matière médicale.	MOREAU. —
Anatomie topographique.	DURAND. —

Agrégés

MM.	MM.	MM.	MM.
ROUX.	SIRAUD.	BERARD.	VILLARD.
COLLET.	DURAND.	SAMBUC.	TIXIER.
BOYER.	PIC.	BORDIER.	FABRE.
BARRAL.	PAVIOT.	COURMONT (P.).	REGAUD.
MOREAU.	NOVE-JOSSERAND.	CHATIN.	CAUSSE, ch...
VALLAS.			

M. BAYLE, Secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. LÉPINE, président; FLORENCE, assesseur;
MM. MOREAU et CAUSSE, agrégés.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les Dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A MA MÈRE

*J'offre ces modestes pages, comme
témoinage de ma profonde reconnais-
sance et de ma meilleure affection.*

MEIS ET AMICIS

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur LÉPINE

*Hommage de ma reconnaissance et
de ma grande admiration.*

A Monsieur le Professeur FLORENCE

Hommage de reconnaissance.

Au moment de terminer nos études pharmaceutiques, nous sommes heureux de pouvoir remercier publiquement tous ceux qui nous ont porté de l'intérêt et témoigné de la sympathie.

En 1901, M. le professeur Florence nous fit l'honneur de nous admettre dans son laboratoire. Il nous y a appris à aimer la matière médicale, et en particulier l'histologie végétale, car il sait, par sa parole, en rendre l'étude intéressante et convaincre ses élèves que cette science, indispensable à l'art pharmaceutique, est aussi une science aimable quand on la comprend bien. M. le professeur Florence nous a toujours témoigné beaucoup d'intérêt, et nous avons pu apprécier sa grande bienveillance ; qu'il veuille bien recevoir l'hommage de notre profonde reconnaissance.

C'est M. le professeur Lépine qui, il y a bientôt deux ans, nous suggéra l'idée de ce travail et mit son laboratoire à notre disposition. Déjà initié aux secrets de la chimie générale par nos maîtres de la Faculté, à ceux des expertises toxicologiques par M. le professeur Florence, nous avons abordé, en entrant au laboratoire de clinique médicale, cette science encore plus

délicate et difficile de la chimie biologique. Que M. le professeur Lépine accepte l'expression de nos respectueux hommages et de notre grande reconnaissance pour les secrets scientifiques qu'il nous a permis de pénétrer.

Nous associons à ce tribut de reconnaissance M. Boulud, chef du laboratoire et pharmacien en chef de l'hospice de l'Antiquaille, pour les nombreux et sérieux renseignements qu'il nous a donnés et la sympathie bienveillante qu'il nous a toujours montrée.

Nos meilleurs remerciements à MM. les professeurs agrégés Moreau et Causse de l'honneur qu'ils nous font en acceptant de faire partie de notre jury.

Au dehors de l'Université, nous sommes heureux d'adresser nos chaleureux remerciements à M. Aubert, pharmacien en chef de la Charité, et à M. Porteret, pharmacien en chef de l'Hôtel-Dieu, pour l'intérêt et la sympathie dont ils nous ont comblé durant notre stage et nos deux années d'internat dans les hôpitaux.

Nous avons trouvé dans les hôpitaux d'excellents camarades; auprès d'eux, nous avons recueilli de nombreuses marques de sympathie, et nous en garderons toujours le précieux souvenir.

INTRODUCTION

Les glandes dites à sécrétion interne, la glande thyroïde en particulier, ont été l'objet depuis 1894 de nombreux travaux. Notkin, Frankel, Baumann cherchèrent à isoler les principes actifs de cette glande.

D'après Notkin, elle contient :

1° Le thyréoprotéide, qui à la dose de 2 grammes par kilog. d'animal produit une intoxication aiguë mortelle ;

2° La thyroïdine, composée d'une albuminoïde et d'une enzyme.

Frankel isola la thyroéoantitoxine, qui d'après lui se rapporte à la guanidine.

Tandis que les travaux de ces deux savants rattachaient le principe actif aux albuminoïdes, Baumann établit qu'il contient de l'iode et l'appelle thyréiodine.

Baumann et Ross n'admettent qu'un seul principe actif, tandis que Notkin admet une enzyme qui détruit le thyréoprotéide résultant des échanges nutritifs.

En 1897, Gottlieb et Notkin montrent que les injections d'iodothyreine ne suspendent point les accidents des chiens thyroïdectomisés, ce qui prouve que l'action du corps thyroïde est complexe.

Aucun des principes actifs isolés ne répond du reste à l'activité entière de la glande.

Comme on le voit, nous ne connaissons pas grand-chose de certain sur les principes actifs de la glande thyroïde ; ceux des capsules surrénales sont encore moins connus.

Il suffit en effet de lire les différents travaux qui ont paru à ce sujet pour remarquer les contradictions de leurs auteurs. C'est cette raison qui nous a incité à approfondir cette question de l'étude chimique des capsules surrénales.

L'étude rétrospective des différents travaux chimiques sur l'extrait de capsules surrénales et les principes actifs de ces dernières ; les propriétés chimiques et physiologiques de l'adrénaline et son dosage feront l'objet de notre premier chapitre.

Le chapitre II sera consacré à la description et à la discussion des diverses préparations d'extraits que nous avons faites et à l'étude de la précipitation des principes actifs à l'état de bases. La discussion des hypothèses sur la nature chimique et la constitution de l'adrénaline sera contenue dans le chapitre III.

Le chapitre IV contiendra les conclusions.

CHAPITRE PREMIER

A. — Étude rétrospective des travaux chimiques sur les capsules surrénales.

C'est vers 1856 que Brown-Séquard constata, chez le cobaye, que la suppression des capsules surrénales détermine, en quelques heures, la mort de l'animal avec convulsions et paralysie.

C'est également en 1856 que Vulpian remarqua la coloration verte que prend l'extrait de capsules surrénales par l'addition de quelques gouttes de perchlorure de fer; et que l'eau iodée et d'autres oxydants lui donnent une coloration rouge.

En 1866, Arnold ajouta quelques particularités sur ce que l'on connaissait déjà des substances chromogènes, contenues dans les capsules surrénales. Krukenberg affirma l'existence de plusieurs chromogènes et identifia avec la pyrocatéchine celui qui donne la réaction verte au perchlorure de fer.

Pellacani signala, en 1879, la toxicité de l'extrait aqueux de capsules surrénales; le fait fut confirmé, mais l'existence de ces produits toxiques pendant la vie fut niée, entre autres par Tizzoni.

Ce n'est que longtemps après, en 1894, que furent découvertes les propriétés physiologiques de l'extrait de capsules surrénales, par MM. Oliver et Schaffer à Londres et MM. Cybulski et Szymonowicz à Cracovie.

Ces expérimentateurs découvrirent, que l'injection de l'extrait de capsules dans la veine d'un chien produit immédiatement une élévation de la tension artérielle.

Petit, étudiant ces organes chez différents poissons, découvrit qu'ils avaient une structure glandulaire des plus simples.

Abelous et Langlois, Albanèse, Charrin, Alezais, Sulpimo, Arnaud, s'étant occupés à nouveau de la question, au point de vue physiologique, conclurent que la mort produite par l'ablation des capsules surrénales était due à une auto-intoxication. Ils établirent que la suppression totale de ces glandes chez les animaux provoque la mort, en un temps variable de dix à trente-six heures, alors que l'extirpation d'une seule glande, accompagnée ou non de l'ablation partielle de l'autre, ne produit aucun accident.

Après avoir constaté ces faits, ces savants cherchèrent à en déterminer les fonctions physiologiques dans le corps de l'animal. Il leur sembla que les poisons produits dans le muscle par le surmenage étaient transformés ou simplement atténués dans ces organes et ils déduirent qu'ils en détruisent les toxines ou qu'ils les neutralisent.

Il ressort de ces recherches que la suppression des capsules surrénales semble déterminer une véri-

table auto-intoxication et elles semblent être destinées à protéger l'économie contre les poisons musculaires hyposthénisants, et renfermer des poisons dont l'effet le plus singulier est d'engendrer une paralysie semblable à celle que produit le curare.

Les recherches de Gottlieb, Boruttau, Langley, Blum, Herter, Battelli ont ajouté beaucoup à ces connaissances sur les effets de l'extrait de capsules surrénales.

Les phénomènes physiologiques produits par l'injection de ces extraits, amenèrent les savants à rechercher la nature des poisons qu'ils contiennent.

L'étude chimique fut d'abord très confuse. D'après les réactions, Vulpian, Virchow, Mülmann avaient admis la présence de la pyrocatechine.

Frenkel, en 1896, nia au contraire l'existence de ce produit; il isola des glandes surrénales, à l'aide d'un mélange acétone-alcoolique, une substance qu'il différença de la pyrocatechine par son insolubilité dans l'éther et sa coloration rose avec l'eau de chaux. Il considéra cette substance comme un dérivé azoté de l'orthoxybenzol, et lui donna le nom de sphymogénine.

Le procédé employé pour la séparation de ce produit consistait à traiter à chaud les glandes par très peu d'eau additionnée légèrement d'acide acétique, filtrer, diluer, évaporer. Le résidu brunâtre était repris par l'alcool.

Le nouveau résidu est soluble dans l'eau, très peu dans l'éther, donne avec une solution diluée de per-

chlorure de fer une coloration verte, qui par le carbonate de sodium passe au rouge violacé.

La substance active de ces capsules restait à isoler.

Procédé Moore. — En 1895, Moore fit un extrait aqueux et par évaporation obtint un produit très coloré, très déliquescent et très actif, mais pas plus que Frenkel il ne parvint à isoler aucun principe défini.

Procédé Abel. — En 1899, Abel donna le procédé d'extraction suivant :

Les capsules fraîches sont mises à macérer dans de l'eau à 40° pendant cinq heures. Au bout de ce temps elles sont mises une heure au bain-marie à 90° sous une couche d'huile, destinée à éviter l'oxydation par l'air. On presse, filtre, et on obtient un liquide A. Le caput mortuum est traité par de l'eau acidulée avec de l'acide chlorhydrique, à 2 0/00, une heure à froid; on obtient un deuxième liquide que l'on réunit au liquide A. On distille le tout à basse température sous pression réduite.

Le résidu est traité par deux volumes d'alcool méthylique et on filtre. On distille à nouveau dans le vide. On reprend par l'alcool méthylique et on distille.

On dissout dans l'eau et on traite par le sous-acétate de plomb. On filtre, on ajoute de l'ammoniaque et on obtient un précipité d'oxyde de plomb mélangé d'un composé plombique du principe actif.

On traite par de l'alcool méthylique acidulé par de l'acide sulfurique et on a une solution du principe actif et un précipité de sulfate de plomb. On filtre, et on précipite par l'ammoniaque. On obtient un corps qui, dissous dans l'acide chlorhydrique et précipité à plusieurs reprises par l'ammoniaque, donne finalement le produit qu'Abel a désigné sous le nom d'épinéphrin.

Procédé Fürth, 1900. — Il fait un extrait de capsules surrénales fraîches, au moyen d'eau légèrement acidulée, en opérant en présence d'un peu de zinc en poudre.

L'évaporation est faite à 50° à basse pression dans un courant d'anhydride carbonique. Le résidu de l'évaporation est traité par dix volumes d'alcool méthylique, puis par l'acétate de plomb. Le liquide filtré, débarrassé de l'excès de plomb par l'acide sulfurique, est évaporé dans le vide toujours en présence de CO². On précipite par l'ammoniaque, on recueille le précipité et le lave à l'eau, l'alcool, l'éther, on sèche dans le vide sulfurique et l'on obtient le corps que Fürth appelle *suprarénine*.

Il indique le rendement de 2 gr. 2 par kilogramme de glandes, avant la dernière purification.

Procédé américain. — En 1901, Takamine et Aldrich arrivèrent, par des procédés presque identiques, à isoler l'adrénaline.

L'extrait de capsules, préparé d'abord à l'abri de l'air et repris par l'eau, est chauffé vers 90°-95° pour

coaguler les matières albuminoïdes. La liqueur filtrée et évaporée dans le vide est traitée par un alcali jusqu'à réaction faiblement basique, puis additionnée d'une proportion de chlorhydrate d'ammoniaque correspondant à la moitié de l'alcali employé, ceci pour éviter un excès d'ammoniaque qui redissoudrait l'adrénaline. On peut du reste remplacer le chlorhydrate d'ammoniaque par un courant de CO_2 . On purifie le produit brut par une série de dissolutions dans un acide étendu, suivies de précipitations par un alcali.

Procédé Battelli. — On prend seulement la substance médullaire des capsules, on triture avec du verre pilé et on traite, cinq fois de suite, par trois volumes d'eau distillée. On réunit les liqueurs et on les porte quelques instants à 90° . On laisse refroidir, on met 2 grammes d'acétate de plomb pour 1000 c. c. de liquide. On centrifuge, et on lave le précipité jusqu'à ce qu'il ne contienne plus de principe actif. On réunit les liquides de lavage au filtratum, et on traite par l'hydrogène sulfuré. On lave le précipité jusqu'à ce qu'il ne contienne plus de principe actif et on ajoute six à sept volumes d'alcool. On a un précipité rougeâtre. On filtre et on évapore dans le vide à 50° jusqu'à $1/5$ du volume primitif.

On précipite par le bichlorure de mercure, on centrifuge, on lave le précipité jusqu'à ce qu'il ne contienne plus de principe actif. On soumet à l'action de l'hydrogène sulfuré, on centrifuge et on évapore partiellement. On obtient un liquide jaune à réaction

acide que l'on met dans de la glace fondante. On neutralise par l'ammoniaque, puis on ajoute une goutte d'ammoniaque pour 2 c.c. de liquide. On a un précipité d'adrénaline, et cinq minutes après on centrifuge dix minutes.

Un quart de l'adrénaline reste en solution. On acidifie, on concentre et on refroidit, puis on neutralise et on alcalinise.

On lave l'adrénaline par quatre volumes d'eau, on centrifuge, lave à l'alcool et l'éther et on chasse ce dernier par le vide.

Modification Abel, 1902. — Après avoir fait un extrait, toujours à l'abri de l'air, Abel précipite les principes actifs, en solution acide, par l'ammoniaque et le chlorure de zinc, sous la forme d'un précipité floconneux. Le précipité maintenu, par agitation, en suspension dans l'eau est traité par un courant d'hydrogène sulfuré qui précipite le zinc. Les divers composés, épinéphrin,adrénaline, suprarénine, d'après Abel restent en solution, d'où il ne reste plus qu'à les précipiter par l'ammoniaque.

B. — Propriétés chimiques de l'adrénaline

De toutes ces préparations et des corps identiques ou différents que l'on a obtenus, il ressort un ensemble de propriétés générales, physiologiques et chimiques, qui s'adaptent à peu près à chacun d'eux. Nous nous occuperons d'abord de ces dernières.

L'adrénaline, suivant le procédé de préparation et le mode de cristallisation employé, se présente sous l'aspect d'une poudre blanc jaunâtre, qui au microscope présente un des aspects cristallins suivants :

Groupements en choux-fleurs ou tomates ;
Feuilles ;
Plaques losangiques agglomérées ;
Fines aiguilles ;
Prismes.

Sa densité et sa couleur varient également. Des cristallisations répétées permettent de l'obtenir en poudre blanche légère ; mais étant très décomposable, son action physiologique diminue après plusieurs cristallisations.

Elle est peu soluble dans l'eau et l'alcool froids ou chauds. Elle est très soluble dans l'eau acidulée. Elle est également soluble dans les alcalis, mais ces derniers la décomposent, quand ils sont en excès.

Les solutions aqueuses peu acides deviennent rapidement roses à l'air, mais ne perdent pas leurs propriétés physiologiques. L'addition d'une petite quantité d'acide chlorhydrique fait disparaître la coloration si elle est très légère. Si ce moyen est insuffisant, le chauffage à l'autoclave la rend de nouveau incolore.

Chauffée à sec, dans une petite capsule de platine, elle se boursoufle, brunit, charbonne, laisse des cendres blanches qui sont volatiles au rouge (1).

(1) FAYOL, non publié.

Elle est basique à la phénolphtaléine et au tournesol. Elle donne avec le perchlorure de fer une belle coloration : verte en solution acide ; violette en milieu neutre ; mauve en milieu alcalin.

Cette coloration passe au rouge à l'ébullition. Les protosels de fer donnent une coloration mauve.

L'ammoniaque et l'iode donnent une coloration rose persistante.

Elle ne réduit pas le réactif cupro-potassique, et ne donne aucune des réactions générales des alcaloïdes.

Le bichlorure de mercure ne donne pas de précipité, mais à l'ébullition on a une coloration rosée, et si on ajoute de l'ammoniaque il y a réduction.

Ce fait peut s'expliquer en admettant que HgCl_2 agit comme oxydant indirect. Il perd un équivalent de Cl , qui, en présence de H_2O , libère de l'oxygène, et il passe lui-même à l'état de sel mercurieux, qui en présence de l' AzH_3 donne du mercure métallique.

Après avoir répété les expériences donnant lieu aux diverses réactions que nous venons de signaler, nous avons essayé l'action de nombreux composés sur l'extrait purifié de capsules surrénales et sur l'adrénaline, dans le but de trouver quelque composé stable et constant des principes actifs des capsules. Nous allons passer successivement en revue quelques-uns d'entre eux, en signalant à l'occasion les réflexions que ces expériences nous ont suggérées.

Avec l'eau oxygénée et du $\text{Fe}^{2+} \text{Cl}^{6-}$, on a une coloration rosée, puis au bout d'une demi-heure un précipité floconneux blanc rosé.

Action de l'iode en présence de l'iodure de potassium — Si, à une solution d'adrénaline, ou même à un extrait purifié de capsules surrénales, on ajoute une solution d'iode dans de l'iodure de potassium, on obtient un précipité orange, qu'on lave à l'eau, l'alcool, l'éther.

Ce composé peu soluble dans l'alcool l'est un peu plus dans l'eau.

L'iode ne peut y être décelé qu'après fusion en présence de carbonate de potasse.

Si, cependant, on le porte à l'ébullition en présence de l'eau et d'un peu d'oxyde jaune de mercure, dans le but de mettre en liberté un principe actif, on obtient un léger précipité ocreux, à odeur d'iodoforme. Si on dissout ce précipité dans l'éther et qu'on abandonne la solution à l'évaporation spontanée, on obtient les aiguilles d'iodoforme caractéristiques au microscope.

Dans le liquide traité aucune réaction au Fe^2Cl^6 et à l' AzH^3 .

Le précipité injecté à un cobaye ne l'a pas rendu glycosurique.

Action du permanganate de potasse. — Le permanganate de potasse donne, en présence de composés adrénaliniques, un précipité ocreux, soluble dans l'ammoniaque. Cette solution donne par l'acétone un précipité blanc qui se présente, au microscope, sous la forme de granulations polygonales incolores.

Ce précipité injecté à un cobaye le rend glycosurique.

Cette substance est soluble entièrement dans les acides étendus, et seulement partiellement dans l'ammoniaque ; probablement après décomposition en Mn^2O^3 et corps complexes. La nouvelle solution ammoniacale donne, après distillation, un produit soluble dans les acides étendus et qui injecté à un cobaye ne l'incommoder nullement.

Dialyse. — Si on met dans la partie supérieure d'un dialyseur, de l'extrait purifié de capsules, et de l'eau distillée dans la partie inférieure, il se produit en vingt-quatre heures une forte aspiration de l'eau du vase inférieur dans le vase auquel est adapté le septum, mais les principes actifs, caractérisés par les réactions au Fe^2Cl^6 et à l' AzH^3 , ne dialysent pas d'une façon sensible. Il dialyse une substance chromogène brunâtre, ne possédant aucune des réactions chimiques ou physiologiques de l'extrait de capsules surrénales.

Peut-être la dialyse a-t-elle une action hydrolysante ou oxydante sur les principes actifs des capsules ? Cette hypothèse entraîne avec elle l'idée de la fragilité et de la complexité de ces principes actifs.

Action du noir animal. — L'addition de noir animal bien lavé à un extrait de capsules le décolore partiellement, mais en quelques heures, les liquides ne donnent plus aucune réaction chimique. Le noir animal ne cède, ni par l'eau chaude ni par l'eau acidulée, des principes ayant des réactions chimiques. Il est probable que les principes actifs ont été oxydés.

Nous n'avons, du reste, pas essayé les réactions physiologiques.

Action du perchlorure de fer. — Une solution étendue de perchlorure de fer ajoutée goutte à goutte à une solution d'adrénaline, ou à un extrait purifié de capsules, donne un précipité brun. Ce précipité, lavé à l'eau, l'alcool et l'éther, se présente sous l'aspect d'une poudre légère, brune, un peu soluble dans l'eau, à laquelle elle communique une couleur brune dichroïque particulière.

Cette substance est très soluble dans l'ammoniaque en donnant une coloration rhum.

On ne peut y déceler le fer qu'après destruction de la matière organique.

La solution de ce produit, injectée à un cobaye, ne le rend pas glycosurique, et ne l'incommodé nullement, même à fortes doses.

Ce composé ferrique, inactif physiologiquement, est à rapprocher du composé zincique d'épinéphrine obtenu par Abel (1). Il diffère de ce dernier par l'im-

(1) Fürth, le premier, fit usage du chlorure du zinc et de l'ammoniaque, pour précipiter les substances actives des capsules surrénales. Il opérait sur un extrait fait avec de l'eau acidulée par l'acide sulfurique et purifié par l'acétate de plomb.

Abel fait un extrait avec de l'acide acétique à basse température. Il porte rapidement à l'ébullition, afin de précipiter les substances protéiques. Trois litres d'extraits sont concentrés à 200 c.c. On met cette solution dans un cylindre avec de l'alcool absolu, puis on agite vigoureusement, en continuant de mettre de l'alcool jusqu'à 1800 c.c. A la fin, le cylindre contient beaucoup d'aiguilles qui deviennent granuleuses. Après quelques heures, on sépare l'alcool, que l'on distille dans le vide, jusqu'à consistance sirupeuse. Ce sirop, par refroidissement, se prend en une masse brune, que l'on dissout dans une solution ammoniacale de zinc. La solution est si complète qu'il est

possibilité, par des traitements appropriés, d'en isoler un produit actif physiologiquement. Tandis qu'Abel prétend avoir transformé son composé zincique inactif en un produit qui donne toutes les réactions caractéristiques de l'épinéphrine, et qui est physiologiquement actif.

Digestion in vitro. — L'adrénaline étant employée par voie stomacale, nous avons voulu voir *in vitro* si la digestion n'altérerait point ce principe actif.

Nous avons prélevé après six heures de digestion chlorhydropepsique un échantillon et le liquide filtré nous a donné les mêmes réactions chimiques qu'auparavant. Nous avons poursuivi la digestion vingt-

même inutile de filtrer. On ajoute onze volumes d'alcool absolu et après quelques heures de repos, on a une très légère précipitation.

Ce précipité, qu'il appelle Zn (I), est jaune et lourd. On le sépare et on sèche à 50°. Il contient de l'épinéphrine, de la jécorine et d'autres substances solubles dans l'alcool. Le filtratum est concentré, distillé dans le vide, on le reprend par l'alcool et on précipite par l'éther. On a des bâtonnets visqueux, adhérents aux parois du vase.

Abel désigne ce précipité sous le nom de Zn (II).

Ces deux précipités Zn (I) et Zn (II), contiennent le composé zincique de l'épinéphrine, et ils sont partiellement solubles dans l'acide acétique. On chasse alors le zinc par l'hydrogène sulfuré. On lave le précipité, et on concentre sous pression réduite.

On ajoute de l'ammoniaque ($D = 0,994$) jusqu'à réaction nettement alcaline, et on fait couler le long des parois du vase de l'ammoniaque concentrée. On a une masse cristalline blanche à la séparation des deux liquides et l'odeur d'ammoniaque disparaît.

Il faut ajouter de nouvelles quantités d'ammoniaque, et à chaque addition il y a une nouvelle cristallisation. On filtre et on purifie par cristallisations successives.

Cette substance est, d'après Abel, physiologiquement inactive, fortement basique, réduit la liqueur de Fehling et se différencie de l'épinéphrine par l'absence de réactions alcaloïdiques.

quatre heures, et les réactions chimiques ont été modifiées. Le liquide injecté à des cobayes ne leur a pas donné de glycosurie.

La digestion ne semble donc modifier qu'à la longue l'adrénaline introduite dans l'estomac ; cette substance doit avoir le temps de produire l'effet ischémiant qu'on lui demande, avant d'être détruite par le suc gastrique. Si l'ingestion a lieu à jeun, au moment où l'activité stomacale est à son minimum, son effet sera maximum.

C. — Propriétés physiologiques.

L'adrénaline agit successivement et d'une manière remarquable sur la pression vasculaire, la température du corps et la nutrition.

Action sphymométrique. — L'augmentation de la pression artérielle est sous la dépendance de la stimulation que l'adrénaline exerce sur le cœur et sur les fibres lisses des vaisseaux.

Cette vaso-constriction dépend pour une grande part de l'excitation des ganglions nerveux périphériques. On l'observe en effet malgré la section de la moelle, ou l'administration du chloral qui paralyse les centres vaso-moteurs.

Les battements du cœur sont augmentés et plus intenses, M. Gottlieb a vu, chez un lapin intoxiqué par le chloral, le cœur recouvrer son énergie par l'injection de faibles doses d'extrait de capsules.

On a proposé d'utiliser cette action « cardiaque » ;

mais jusqu'à ce jour, c'est l'action vaso-constrictive, hémostatique, qui a été seulement utilisée en thérapeutique. Cette action est considérable et fort précieuse pour la pratique.

Emploi comme ischémiant des muqueuses. — L'adrénaline est en effet l'astringent le plus actif que nous connaissions ; c'est un hémostatique, un ischémiant puissant qui anémie rapidement les muqueuses, décongestionne les tissus, arrête certaines hémorragies.

En raison de ces propriétés, elle est utilisée avec succès dans la chirurgie oculaire et rhinologique, où elle permet l'intervention sans perte sanguine.

Elle est employée dans les kératites, les glaucomes où elle diminue la tension oculaire, dans les congestions des canaux lacrymaux et des cornets, dans les laryngites, les pharyngites, les amygdalites et les opérations de ces régions.

Dans les tumeurs hémorroïdales elle réussit très bien mais il faut dans ce cas l'associer à la cocaïne qui annihile la douleur produite par la vaso-constriction.

La chirurgie dentaire l'a employée également mais à très petites doses et associée à la cocaïne.

Action de l'extrait de capsules sur la température centrale. — M. le professeur Lépine a signalé, consécutivement à l'injection d'une dose d'extrait capable d'élever la tension artérielle, une augmentation de la température centrale (1).

(1) LÉPINE : Sur l'action de l'extrait de capsules surrénales, *Semaine médicale*, 18 février 1903.

Action de l'extrait de capsules sur le métabolisme des hydrates de carbone. — Blum a découvert que, si à un chien bien nourri, on injecte une quantité d'extrait supérieure à celle qui élève la tension artérielle, mais inférieure à la dose mortelle, l'urine émise dans les heures suivantes, renferme quelques grammes de sucre par litre. Cette glycosurie, qui fait défaut chez l'animal inanitié, est d'autant plus remarquable qu'il existe, comme on sait, un certain antagonisme entre l'hyperthermie et la glycosurie. Elle paraît surtout due à une production de sucre aux dépens du glycogène du foie ; mais il est à noter de plus que, d'après MM. Lépine et Boulud, peu de minutes après l'introduction dans les veines d'une dose d'adrénaline suffisante pour produire la glycosurie, le sang a perdu la plus grande partie de son pouvoir glycolytique (1).

D. — Dosage colorimétrique de la substance active des capsules surrénales.

M. Battelli a donné une méthode de dosage de l'adrénaline basée sur la coloration verte qu'elle donne avec le Fe^2Cl_6 .

Il se sert d'une solution aqueuse de perchlorure de fer à 15 p. 100 et il en emploie une goutte par centimètre cube d'extrait et opère, sur 5 c.c. plus ou moins dilués, jusqu'à ce que l'on ait une coloration

(1) LÉPINE et BOULUD : *Comptes Rendus de l'Académie des sciences*, 12 janvier 1903.

fugace, très fugace, qui est la coloration limite correspondante.

M. Battelli appelle unité FeCl^3 , 1 c.c. du liquide qui possède la dilution limite, 0 gr. 01 d'adrénaline pure à l'état de base donne 700 à 750 unités FeCl^3 , c'est-à-dire que la solution :

Adrénaline	0 gr. 01
Eau	700 c.c. à 750 c.c.

donne en prenant 5 c.c. avec 5 gouttes Fe^2Cl^6 15 p. 100 une coloration verte très fugace.

Cent capsules de bœuf pesant 1.780 grammes donnent, d'après M. Battelli, 225.000 unités, soit 3 gr. 10 d'adrénaline.

0 gr. 01 d'adrénaline dans 800 grammes d'eau ne donne rien avec le Fe^2Cl^6 (1).

Nous avons dosé par ce procédé des extraits purifiés de capsules surrénales et des solutions d'adrénaline, et nous nous sommes aperçu que plusieurs facteurs, dont on n'a pas tenu compte jusqu'ici, font varier dans de très larges proportions l'intensité et la fugacité de la réaction au Fe^2Cl^6 .

Ces deux éléments, intensité et fugacité, ne semblent pas du reste dépendre absolument des mêmes causes, ou tout au moins varier d'une façon inversement proportionnelle.

C'est ainsi que l'on peut avoir une réaction peu intense, mais durable, comme une coloration intense mais fugace.

(1) BATTELLI: *C. R. de la Société de Biologie*, 1902.

Nous avons cherché par les quelques expériences suivantes à déterminer ces divers facteurs :

Première expérience. — Nous prenons un extrait de capsules surrénales, purifié et de réaction franchement acide. Deux c. c. de cet extrait sont mis dans chacun des trois tubes A, B, C.

Le tube B est additionné de 8 c. c. d'eau distillée

Le tube C est additionné de 18 c. c. d'eau distillée

et dans chacun de ces tubes nous laissons tomber 2 gouttes solution de Fe^2Cl^6 à 15 p. 100 et nous obtenons les résultats suivants :

Tube A : Coloration verte se conservant très longtemps

Tube B — — moins longtemps

Tube C — — plus longtemps

D'où il est facile de conclure qu'il y a une zone d'acidité et de concentration moyennes où la réaction est plus fugace. De part et d'autre la réaction est de plus longue durée.

Deuxième expérience. — Nous prenons trois tubes D, E, F, et dans chacun d'eux, nous ajoutons 2 c. c. d'extrait comme plus haut. Les tubes sont dilués jusqu'à 20 c. c. de liquide total et

Le tube E est additionné de 1 goutte HCl pur

Le tube F — 2 gouttes —

Deux gouttes Fe^2Cl^6 à 15 p. 100 sont ajoutées dans

chacun d'eux, et nous avons respectivement les colorations :

Tube D,	réaction	très nette
Tube E	—	peu nette
Tube F	—	nulle

D'où nous concluons que l'intensité de la réaction varie avec l'acidité du milieu.

Dans cette acidité, est également comprise celle du Fe^2Cl^6 , dont la solution ne peut être neutre.

Il subsiste, après quelques minutes, une coloration rouge orangé dans le tube D, moins prononcée dans E et très peu dans F.

Troisième expérience. — Deux centimètres cubes d'extrait sont mis dans un tube, on acidule davantage avec HCl , jusqu'à ce que la réaction Fe^2Cl^6 se produise à peine. On dilue alors avec de l'eau distillée, et la réaction apparaît très nettement (1).

Dans cette expérience, l'addition d'eau a dilué dans les mêmes proportions l'acidité et la concentration en adrénaline; mais, puisque la coloration verte apparaît par dilution, c'est la preuve que les deux facteurs antagonistes : acidité et concentration, ne font pas varier l'intensité dans une seule et même progression.

Quatrième expérience. — Nous mettons respectivement 1 c. c. d'extrait dans cinq tubes A, B, C, D, E,

(1) La dilution peut se faire vingt minutes après et la coloration verte apparaît toujours.

et nous diluons à 20 c. c. Nous préparons une solution de Fe^2Cl^6 à 6 p. 100, et une solution d'acide chlorhydrique dans l'eau distillée d'acidité égale à la solution de Fe^2Cl^6 à 6 p. 100. On ajoute, dans les tubes, le nombre de gouttes de solution acide indiquées dans le tableau ci-dessous et ensuite le nombre de gouttes de solution de Fe^2Cl^6 indiquées également :

A 15 gouttes solution acide	A 1 goutte solution Fe^2Cl^6
B 14 — —	B 2 — —
C 12 — —	C 4 — —
D 8 — —	D 8 — —
E 0 — —	E 16 — —

Il est bien entendu que les gouttes de solution acide et de solution de Fe^2Cl^6 correspondent en volume et par conséquent comme acidité.

De cette façon, l'acidité et la dilution sont les mêmes dans tous les tubes. On obtient la coloration verte dans chacun d'eux et la disparition se fait comme il est indiqué dans le tableau :

Tube	E, 10 secondes après
— D	20 —
— C	40 —
— B	2 minutes après
— A	5 —

Discussion. — De cette expérience, nous concluons que la quantité de Fe^2Cl^6 influe beaucoup sur la disparition de la coloration verte. Une quantité trop faible fait apparaître incomplètement la réaction. Une

quantité supérieure à celle exactement correspondante à la quantité d'adrénaline provoque la disparition de plus en plus rapide de la coloration, à mesure que la quantité de Fe^2Cl^6 en excès augmente.

Conclusions. — L'exactitude, même l'approximation pour le dosage de l'adrénaline en solution, ou le titrage d'un extrait purifié de capsules surrénales, par la méthode au Fe^2Cl^6 de Battelli est fonction de plusieurs facteurs dont il est indispensable de tenir rigoureusement compte :

- 1° Concentration
- 2° Acidité
- 3° Quantité de Fe^2Cl^6

1° La concentration qui ne fait pas varier proportionnellement la durée et l'intensité de la réaction, comme le montrent les expériences I et III ;

2° L'acidité du milieu (y compris celle de Fe^2Cl^6), qui influe sur la fugacité de la réaction et même sur sa production dans de certaines limites ; expériences I et II ;

3° La quantité de Fe^2Cl^6 ; expérience IV.

Modification de ce dosage. — Nous pénétrant de ces résultats, nous proposons, dans le dosage des principes actifs des capsules surrénales, de s'assurer que l'acidité de la solution d'adrénaline, ou de l'extrait de capsules, est égale à une certaine valeur à déterminer, et qui peut être variable (dresser plusieurs tables pour diverses acidités).

Préparer une solution de Fe^2Cl^6 à 6 p. 100 ; cette solution étant moins concentrée que celle de M. Battelli donne une approximation plus grande.

Faire une solution d'HCl dans l'eau distillée dont l'acidité est égale à celle de la solution de Fe^2Cl^6 à 6 p. 100. Faire ces titrages avec le papier de tournesol sensible, et par le procédé à la touche.

Mettre, dans cinq tubes, un centimètre cube de la solution ou de l'extrait à doser et respectivement.

Tube A,	4 gouttes solution acide,	1 goutte sol.	Fe^2Cl^6
— B	3	2	—
— C	2	3	—
— D	1	4	—
— E	0	5	—

Diluer d'abord par l'addition dans chaque tube de 9 c.c. d'eau distillée ; ajouter les gouttes de solution acide, puis les gouttes de solution de Fe^2Cl^6 .

Par cette méthode, que l'on pourrait appeler de compensation (et qui pourrait être généralisée), concentration, acidité, dilution sont identiques dans les cinq tubes, la disparition de la coloration en 5 secondes, 10 secondes (temps à déterminer) correspond dans chaque tube à une quantité déterminée de principes actifs.

Chaque tube sert de contrôle aux autres, et l'expérience nous a montré que la quantité d'adrénaline est, dans ces conditions seulement, proportionnelle à la quantité de Fe^2Cl^6 qu'il faut pour amener l'oxydation rapide de l'adrénaline (coloration verte et disparition de cette coloration).

CHAPITRE II

A. — Préparation de l'extrait de capsules surrénales.

Nous nous sommes d'abord inspiré des préparations de Takamine et Aldrich. Celles-ci sont combinées de telle façon que l'extrait soit toujours à l'abri de l'air, afin d'éviter l'oxydation des principes actifs, qui dans certaines conditions est très rapide.

Nous avons pris des capsules fraîches que nous avons coupées et qui ont été mises à macérer à 80° avec de l'eau acidulée par l'acide acétique, sous une couche d'huile. Les liqueurs aqueuses sont réunies et séparées de l'huile, à l'aide d'une grande pipette à brome. Les matières albuminoïdes sont coagulées à l'ébullition et après filtration, la liqueur est distillée dans le vide. Le résidu coloré est repris plusieurs fois par l'alcool, et l'on obtient finalement un extrait sec, jaune, hygrométrique, donnant une coloration verte très intense par le perchlorure de fer, et une coloration rose par l'ammoniaque, et quelques autres alcalins.

Ce procédé est très long, très ennuyeux, surtout à cause de l'intervention de l'huile, dont il est très difficile de se débarrasser complètement.

Certaines substances albuminoïdes ou voisines des gélatines solubles ne sont pas précipitées et l'on obtient un extrait contenant beaucoup de substances étrangères.

Méthode au chlorure de sodium. — Nous avons eu alors l'idée d'introduire, le chlorure de sodium, qui facilite la précipitation des substances albuminoïdes et qui, par la viscosité qu'il donne au liquide, empêche l'action de l'air. Les glandes fraîches sont pulpées avec du NaCl, ce qui permet de les conserver plusieurs semaines sans altération aucune des principes actifs, comme nous avons pu le constater, et permet d'agir sur une plus grande quantité de capsules à la fois.

Les glandes ainsi préparées sont épuisées au B.-M. à 90° plusieurs fois en maintenant la saturation du NaCl. Les liqueurs, passées à l'étamine, sont portées rapidement à l'ébullition. Par filtration, on obtient un liquide jaune citrin peu coloré qui, distillé dans le vide, laisse un résidu sec de NaCl, mélangé des principes actifs. Cet extrait sec, pulvérisé, est traité à plusieurs reprises par l'alcool à l'ébullition dans un réfrigérant ascendant d'abord, dans un appareil à lixiviation ensuite, et les liqueurs alcooliques évaporées à basse température sous pression réduite à la fin, laissent un résidu qui, repris deux ou trois fois par l'alcool absolu, donne une substance

cornée, peu colorée, et donnant très fortement les réactions chimiques indiquées comme étant celles du principe actif des capsules surrénales.

Procédé à l'acide sulfurique et au carbonate de baryum. — L'introduction d'un acide (1) pouvant dédoubler les principes actifs ou les modifier de toute autre façon, surtout à la fin de la concentration, nous avons remplacé l'acide chlorhydrique par l'acide sulfurique, afin de pouvoir neutraliser exactement l'acidité, avant l'évaporation de l'extrait, par le CO^3Ba , corps insoluble, donnant après décomposition du SO^4Na également insoluble. Ce procédé a l'avantage de n'introduire aucune substance étrangère soluble, et donne un extrait coloré toujours corné et très actif.

Méthode combinée des deux précédentes. — En combinant le procédé d'épuisement par une solution saturée de NaCl à l'emploi de l'acide sulfurique, neutralisé avant évaporation par CO^3Ba , on obtient un extrait moins coloré et un peu plus actif.

Procédé à basse température. — Les glandes pulpées sont mises dans un dessiccateur réglé à 40° , et pulvérisées finement. La poudre ainsi obtenue est tassée convenablement dans un appareil à déplacement et lixiviée par la benzine, qui dissout les matières colorantes, graisses, lécithines.

(1) Abel a signalé cette action particulière des acides minéraux à la fin de la concentration, *Bulletin de John Hopkins Hospital*, février-mars 1902.

On épuise alors par l'éther, qui se colore très légèrement, et qui par distillation à basse température (40°) laisse comme résidu une substance jaunâtre visqueuse, qui donne avec le Fe^2Cl^6 une coloration verte très intense et de plusieurs mois de durée. Avec l' AzH^3 , coloration rose très faible.

Injectée à des cobayes, cette substance les a tous rendus glycosuriques.

Les cobayes sont tous morts, dans un temps variable entre quatre et six jours. La glycosurie maxima a été observée le deuxième jour après l'injection, elle a ensuite diminué jusqu'à la mort de l'animal.

Cette expérience fait entrevoir des principes actifs des capsules surrénales solubles dans l'éther : principes peut-être analogues à l'adrénaline, ou bien même cette dernière substance, sous une forme particulière, à l'état de sel organique et peut-être telle qu'elle se trouve dans la glande.

Nous avons fait la même expérience avec du chloroforme, et nous avons eu également une solubilité, beaucoup plus faible il est vrai.

En reprenant l'extrait éthéré par l'alcool, l'évaporant à l'étuve à 40°, on obtient une masse visqueuse donnant avec le Fe^2Cl^6 une coloration verte passant presque instantanément au brun.

A l' AzH^3 , coloration faible et rouge au lieu de rose qu'elle était avant le traitement par l'alcool.

Injecté à un cobaye, cet extrait lui a donné une glycosurie aussi persistante et aussi intense que le produit de l'évaporation de l'éther.

Les réactions physiologiques n'ont dans ce cas

point changé, alors que les réactions chimiques ont varié.

Nous reviendrons du reste sur cette expérience lors de la discussion générale des théories sur les principes actifs des capsules surrénales et de l'adrénaline en particulier.

En lixiviant à nouveau les capsules avec de l'alcool acidulé par HCl à 1/1000, distillant l'alcool à la température de 40° on obtient un extrait qui donne les réactions chimiques et physiologiques indiquées pour l'adrénaline.

Ce procédé a l'avantage de réduire à un volume plus petit les glandes et de faciliter l'épuisement avec une quantité moindre de liquide. Il a également l'avantage de conserver les glandes elles-mêmes sans addition de corps étrangers, capables dans certains cas de dédoubler ou de transformer le principe actif primitif.

Conservation des capsules par dessiccation. — Les capsules débarrassées de tous corps avoisinants sont pilées dans un mortier de verre, et immédiatement étalées comme une pulpe, sur une plaque de verre qui est aussitôt enfermée dans une étuve réglée au préalable à 40° et dans laquelle circule un courant d'un gaz inerte. Douze heures après, elles sont complètement desséchées, et par pulvérisation dans un mortier de verre, on obtient une poudre grise inodore et d'une conservation parfaite.

Cent grammes de capsules fraîches donnent environ 23 grammes de cette poudre.

Procédé à l'autoclave. — Nous basant toujours d'une part sur l'utilité d'éviter le contact de l'air et la prolongation des opérations, qui fait toujours suspecter une transformation de principes actifs aussi délicats, et d'autre part, sur le fait que la chaleur dans de certaines limites n'altère pas l'extrait (ce que nous avons constaté en chauffant de l'extrait en tube scellé (à 120° dans un bain d'huile), nous avons eu l'idée de nous servir de l'autoclave pour épuiser les glandes.

Pour préparer l'extrait, il faut prendre cette poudre de capsules, la mélanger à du chlorure de sodium en poudre, et arroser le tout avec de l'eau acidulée à 1/1000 avec SO^4H^2 . Cette opération est effectuée dans un ballon à large ouverture. Le tout est porté dans un autoclave à la température de 105° une demi-heure. Le magma est pressé, la partie liquide est enfermée dans un ballon et le caput mortuum est divisé avec du NaCl et arrosé avec une solution aqueuse d'acide sulfurique à 1/1000, et le tout remis à l'autoclave.

On répète ainsi cinq fois l'opération ; les glandes sont alors complètement épuisées.

Les divers liquides d'épuisement sont réunis et filtrés, après addition de CO^3Ba . On obtient un liquide jaune citrin, d'odeur faible et particulière, qui est évaporé dans le vide à la température d'environ 70°.

Le résidu composé par du NaCl et les principes actifs est pulvérisé finement et traité par l'alcool bouillant à plusieurs reprises, et finalement déplacé avec de l'alcool froid dans une allonge de verre.

Les liqueurs alcooliques, réunies et distillées, laissent un résidu contenant encore un peu de NaCl. On élimine ce dernier par plusieurs traitements à l'alcool absolu. On obtient finalement une substance gélatineuse peu colorée et extrêmement active.

B. — Propriétés des liquides distillés dans le vide.

Nous avons eu l'idée d'examiner les liquides passant à la distillation dans le vide à 70°, dans les diverses préparations de l'extrait de capsules surrénales. Ces divers liquides présentent tous une réaction acide au tournesol et à la phtaléine. L'un d'eux nous a donné une coloration jaune verdâtre intense par l' AzH^3 et un précipité cristallin, soluble dans les acides et qui, injecté à un cobaye, lui a donné une glycosurie intense persistant plusieurs jours.

Les autres ne nous ont point donné cette coloration par l' AzH^3 , mais après évaporation au bain-marie à 90°, ils ont laissé un résidu un peu coloré, soluble à nouveau dans l'eau et donnant une coloration jaune canari par le Fe^2Cl^6 et une coloration orangée par l' AzH^3 . Ces deux colorations sont persistantes.

Les injections de petites quantités de ces extraits à des cobayes leur ont donné une glycosurie intense persistant trois jours; les deux jours suivants, leurs urines contenaient encore des traces de sucre. Le sixième jour après l'injection, les urines n'avaient plus trace de sucre.

Si, sur un même extrait de capsules, on fait trois distillations successives, l'une après avoir fortement acidifié l'extrait, une deuxième en ajoutant simplement de l'eau distillée au résidu de la première distillation et une troisième, en ajoutant une deuxième fois de l'eau sur le résidu de la deuxième distillation, on obtient :

Un liquide de la première distillation, qui par évaporation à 90° au bain-marie donne peu d'extrait, une faible coloration à l' AzH^3 et au Fe^2Cl^6 , et des traces de sucre par injection à un cobaye.

Un liquide de deuxième distillation, donnant une quantité d'extrait beaucoup plus grande et des réactions chimiques beaucoup plus intenses. Injecté à un cobaye, il lui donne la glycosurie intense citée plus haut.

Enfin la troisième distillation donne un très faible extrait, ne donnant plus les réactions chimiques et physiologiques des deux premiers.

C. — Application de ces procédés au sang, à l'urine, au foie et au pancréas.

Nous avons eu l'idée de faire un rapprochement entre les réactions physiologiques de ces extraits et les réactions que MM. Lépine et Boulud ont obtenues avec les substances qu'ils ont appelées « leucomaïnes diabétogènes », extraites de sangs et d'urines pathologiques et nous avons essayé de traiter ces liquides par les méthodes que nous venons de décrire. Comme

eux nous avons obtenu des extraits qui rendaient les cobayes glycosuriques, mais comme eux nous n'avons pu arriver à isoler des quantités notables de ces substances et à les cristalliser (1).

Le sang est dilué par un égal volume d'eau distillée et acidulée à 1/1000 avec de l'acide sulfurique. Les albuminoïdes sont coagulées par l'ébullition rapide et par filtration on obtient un liquide incolore, dans lequel on ajoute quelques grammes de CO_3Ba fraîchement précipité. On distille dans le vide à basse température, et le résidu sec est repris par l'alcool méthylique, qui laisse insolubles des substances d'aspect résinoïde. Après filtration et distillation sous pression ordinaire d'abord pour terminer en suite dans le vide, le résidu est repris une dernière fois par l'alcool éthylique, lequel, évaporé, laisse une petite quantité de substance qui injectée à des cobayes (2) les rend glycosuriques (3).

Le procédé à l'autoclave est également applicable au sang, aux extraits de foie et de pancréas, et à l'urine.

(1) LÉPINE ET BOULUD : Sur les leucomaïnes diabétogènes, *Lyon médical*, 5 janvier 1902, et *C. R. Académie des Sciences*, 9 juin 1902.

(2) Les cobayes dont nous nous sommes servi sont des cobayes sains, d'un poids moyen de 500 grammes, et qui plusieurs jours avant l'injection sont soumis à un régime qui ne peut leur donner une glycosurie alimentaire. Cette nourriture se compose de feuilles de choux et de son, et les urines des cobayes sont analysées deux jours avant, la veille, et de suite avant l'injection. Ce n'est qu'après s'être assuré de cette façon que chez eux le métabolisme des hydrates de carbone était normal, que nous avons pratiqué d'une façon très aseptique les injections de nos extraits.

(3) Il s'agit de sang pathologique.

L'extrait final doit être repris plusieurs fois par l'alcool méthylique, d'abord, puis on doit terminer par l'alcool éthylique.

Nous avons ainsi obtenu, en partant de sangs pathologiques, de faibles quantités de substances diabéto-gènes. De l'urine d'un diabétique à l'état de coma nous a également fourni, par un traitement identique, après évaporation au B.-M. à 90°, un produit amorphe fortement diabétogène.

Du sang d'un chien, très fortement asphyxié (chien n° 2245 du laboratoire de clinique médicale) nous a donné une substance donnant aux cobayes une glycosurie intense et, en solution dans de l'eau légèrement acidulée, les réactions chimiques suivantes :

$Mn^{2+}O^{2-}K^{+}$, coloration brune, puis précipité brun
 $KI + I$, précipité orange

La réduction de la liqueur de Fehling que nous avons obtenue était due à la présence des sucres du sang.

Eau bromée, très léger précipité blanc que l'on dirait cristallisé.

Les réactions des bases xanthiques et de la murexide sont négatives.

D. — Conservation de l'extrait.

De ces diverses préparations de l'extrait de capsules surrénales, la méthode combinée au NaCl et CO^3Ba avec l'aide de l'autoclave est celle qui nous a

donné l'extrait de meilleure conservation et le plus incolore.

L'acidité joue un rôle important dans cette conservation. Tandis qu'un extrait peu acide se colore rapidement et voit son activité physiologique diminuée (1), un extrait en solution franchement acide est de conservation bien meilleure. Il résiste assez fortement à l'oxydation de l'air ou de quelques agents chimiques.

La nature de l'acide n'est pas sans influence.

L'acide azotique est complètement à rejeter, l'acide chlorhydrique donne de bons résultats mais l'acide sulfurique est préférable.

E. — Précipitation des principes actifs à l'état de bases.

On avait reconnu l'action physiologique de l'extrait de capsules depuis déjà longtemps, lorsque plusieurs savants donnèrent des procédés pour isoler de cet extrait un principe cristallisé qu'ils dirent être le principe actif des capsules surrénales.

Nous avons au laboratoire suivi exactement les méthodes qu'ils indiquent et nous ne sommes arrivés qu'à isoler un produit inactif chimiquement et phy-

(1) Même en flacon scellé à la lampe, par conséquent complètement à l'abri de l'air; en ce cas le liquide reste presque incolore, mais les propriétés physiologiques arrivent en quelques mois à être nulles.

siologiquement (1). Il est probable que les procédés qu'ils décrivent sont fantaisistes ou incomplets.

Plusieurs anomalies sont du reste à signaler dans ces préparations :

1° L'influence réductrice énergique de H^2S , dont on se sert pour précipiter le plomb ou le zinc ; influence qui détruit totalement et en peu de temps les principes actifs des capsules surrénales, ce que nous avons constaté plusieurs fois. Les réactions chimiques changent rapidement et l'injection de fortes quantités à un cobaye ne lui occasionne aucun accident glycosurique ;

2° L'emploi dans plusieurs de ces procédés du perchlorure de fer pour précipiter l'adrénaline à l'état de composé ferrugineux. Or, le Fe^2Cl^6 est un oxydant énergique qui détruit les principes actifs des capsules surrénales, ce que nous avons constaté par des injections répétées à des cobayes.

Nous avons essayé, sur le précipité brun obtenu, de faire agir divers réducteurs légers ou énergiques, et nous ne sommes pas arrivé à réduire le composé, ce qui prouve qu'il ne s'agit pas seulement d'une simple oxydation partielle ou totale, d'une fixation de molécules d'oxygène, mais bien d'un dédoublement, d'une désorganisation complète des molécules, constituant les principes actifs des capsules surrénales.

(1) Cette assertion est corroborée par ABEL dans *Bull. John Hopkings' Hospital*, février-mars 1902.

CHAPITRE III

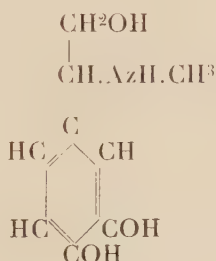
Hypothèses sur la constitution de l'adrénaline.

Aldrich adopte comme formule empirique de l'adrénaline : $C^9H^{13}AzO^3$;

Abel : $C^{10}H^{11}AzO^3$;

Pauly : $C^9H^{13}AzO^3$.

Plusieurs formules de constitution ont été données. La plus récente est d'un savant allemand, qui a obtenu un urate cristallisé et un composé de benzoyle de l'adrénaline. Voici, à titre de renseignement, cette formule de constitution :



(1) PAULY, *Berichte*, XXXVII, p. 1388.

Plusieurs ont voulu voir des groupements constitutionnels révélés par les réactions chimiques. C'est ainsi que les orthodiphénols donnant une coloration verte par le Fe^2Cl^6 virant au rouge par la chaleur, on a prétendu qu'il existe dans l'adrénaline un groupement phénolique identique. Une réaction encore plus générale de tous les composés phénoliques est le précipité de tribromophénol que l'on obtient par addition d'eau bromée. Or cette réaction manque totalement dans l'extrait de capsules surrénales et dans les adrénalines commerciales. Nous croyons donc que l'on doit rejeter l'hypothèse d'un groupement phénolique libre dans la constitution du ou des principes actifs des capsules surrénales.

Abel prétend que l'on ne sait pas à quel état se trouve le principe actif dans les capsules, il est à peu près certain que les principes actifs que l'on en a retirés ne sont pas identiques au principe actif primitif.

Ces produits, en effet, présentent entre eux des différences très grandes, au point de vue des réactions chimiques. C'est ainsi que certaines adrénalines commerciales donnent une réaction intense au Fe^2Cl^6 alors que la réaction de l'ammoniaque est faible, tandis que d'autres présentent une coloration rose intense par l'ammoniaque et une coloration verte faible et fugace au Fe^2Cl^6 .

Nous avons pu constater que ces différences sont dues au mode de préparation, aux conditions de température, d'acidité, de temps, et à la nature et aux qualités des glandes employées.

Les activités physiologiques sont aussi très variables, les unes donnant, à poids égaux et dans des conditions identiques, une plus forte pression artérielle que les autres.

La toxicité varie, et d'une façon parfois fort différente de la puissance sphymométrique.

Plusieurs auteurs affirment que les précipitations successives de l'adrénaline par l' AzH^3 diminuent son action sur la tension artérielle.

Abel a observé le premier que l'adrénaline américaine s'altère au bout de peu de temps; quels que soient les soins pris pour sa conservation, il se dégage une petite quantité de substance basique, sur la nature de laquelle on n'est pas encore fixé. Nous avons cependant observé que dans certaines conditions d'acidité, elle est décomposée par distillation dans le vide, et il se dégage une certaine quantité d'ammoniaque libre.

Fürth a observé également ce fait et, d'après lui, la perte d'azote, pour un produit conservé dans le vide, peut atteindre 2 à 3 p. 100; la décomposition dépend de la température, de l'humidité et de l'état de pureté. Il se dégage de petites quantités d' AzH^3 et cette réaction se produit à la pression ordinaire, en présence d'un peu de chaux éteinte.

Nous avons observé ce dégagement d' AzH^3 sous la cloche sulfurique aussi bien avec des adrénalines cristallisées qu'avec les capsules fraîches ou sèches et les extraits purifiés.

Cette action semble indiquer dans les principes actifs la présence de groupements aminogènes, fai-

blement fixés à la molécule, ou encastrés dans une molécule faiblement dissociable. Cette dernière hypothèse semble plus probable, car le résidu de la distillation très prolongée possède des réactions chimiques fort différentes et n'a aucune action diabétogène. Or, comme on ne peut attribuer au groupement AzH^3 des propriétés diabétogènes, on est obligé d'admettre la dissociation de la molécule.

L'extrait purifié de capsules ne réduit pas la liqueur de Fehling, et les divers auteurs ne s'entendent pas au sujet de l'adrénaline ; les uns prétendent que cette dernière substance réduit la liqueur de Fehling, les autres prétendent qu'elle ne doit avoir aucune action sur la liqueur cupro-potassique. Fürth, Abel, Frenkel, Moore, Metzger appellent particulièrement l'attention sur ce fait, et ils pensent que cette réduction doit être attribuée à une substance étrangère intervenant dans la réaction. D'après Aldrich, il y a eu oxydation, dans les cas où on a obtenu un produit final réduisant la liqueur de Fehling.

Abel (1) donne un procédé de préparation d'un extrait réduisant la liqueur de Fehling ; il prétend qu'un demi-milligramme d'adrénaline peut être ainsi décelé en solution.

(1) « S'il y a en solution, dit-il, 2 ou 3 milligrammes d'adrénaline, la réduction est visible en inclinant la capsule sur le côté, sans la laisser refroidir. Si la réduction est trop faible, il faut laisser refroidir et décanter ; on aperçoit alors le précipité de Cu^2O . Si la réduction est encore plus petite, la coloration devient plus visible par addition d'une goutte d'acide dilué, que l'on fait couler le long des parois de la capsule. Par cette dernière méthode, la moindre trace peut être décelée, même 0 millig. 5. »

Toutes ces considérations et les nombreuses manipulations que nous avons faites sur les capsules surrénales et diverses adrénalines commerciales nous font croire que le principe actif de ces capsules n'est pas aussi simple qu'on est tenté de le croire.

La diversité des produits obtenus par différentes méthodes sous le rapport de leur solubilité et de leurs réactions chimiques et physiologiques semble indiquer dans les produits la présence de plusieurs substances actives, ayant chacune ses propriétés physiologiques spéciales et ses réactions chimiques particulières.

Chaque mode de traitement semble solubiliser plus ou moins complètement tel ou tel principe actif, chaque genre de précipitation atténue différemment tel ou tel principe, le modifie plus ou moins dans sa structure et nous donne des produits différents.

Mais la différence des traitements n'est peut-être pas la seule cause des différences chimiques et physiologiques présentées par les produits obtenus. Il semble que les capsules ne renferment pas toujours les mêmes principes, ce qui n'a rien d'extraordinaire. On sait par exemple que celles des addisoniens ne contiennent qu'en très faible quantité le principe actif sphymogénique. Ainsi, des modifications dues sans doute aux *adaptations* physiologiques paraissent susceptibles d'expliquer les anomalies que l'on rencontre dans les proportions et même dans l'existence de certains principes actifs des capsules surrénales.

CONCLUSIONS

Les capsules surrénales contiennent probablement plusieurs principes différents.

La constitution de ces principes actifs est vraisemblablement très complexe, leurs poids moléculaires très élevés. Ils peuvent subir, sous des influences diverses, des transformations qui les atteignent plus ou moins profondément dans leur structure facilement dissociable.

Les réactions au perchlorure de fer et à l'ammoniaque ne sont probablement pas spécifiques des principes actifs primitifs des capsules, vu le manque de relations proportionnelles entre ces réactions et l'action physiologique.

Vu :

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,
LÉPINE.

Vu :

POUR LE DOYEN :

L'Assesseur,
HUGOUNENQ.

Vu et permis d'imprimer :

LE RECTEUR DE L'ACADÉMIE,
Président du Conseil de l'Université,
G. COMPAYRÉ.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- MOORE (B.). — *Journal of Physiology*, 1895, XVII, p. 14.
- FRANKEL. — *Wiener medicinische Blätter*, 1896, XXVI, p. 409.
- ABEL et CRAWFORD. — *Bull. Hopkins Hospital*, July 1897.
- L.-P. LANGLOIS. — Sur les fonctions des capsules surrénales. (Thèse de doctorat ès sciences, Paris, 1897.)
- ABEL (J.-J.). — *John Hopkins Hospital Bulletin*, 1897, VIII, p. 151 ; 1901, VII, p. 337-338, et février-mars 1902.
- METZGER. — Zur Kenntniss der wirksamen Substanzen der Nebennieren, Diss. Würzburg, 1898, *Comptes rendus de la Société de biologie*, *American Journal of Physiology*, 1902 ; *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 29 septembre 1896, p. 663.
- VULPIAN. — Notes sur quelques réactions propres à la substance des capsules surrénales.
- VON FÜRTH. — *Zeitsch. f. physiol. Chemie*, 1898, XXIV, p. 142.
- O. VON FÜRTH. — Zur Kenntnis der brenzcatechinaehnlichen Substanz der Nebennieren, *Zeitsch. f. physiol. Chemie*, XXVI, p. 15, et XXIX, p. 105.
- ALDRICH. — A preliminary report on the active principle of the suprarenal glands, *American Journal of Physiology*, 1901.
- TAKAMINE. — The blood pressure raising principle of the suprarenal glands, *Therap. Gazette*, 1901.
- Union pharmaceutique*, 1901, 1902, 1903.
- Journal de pharmacie et de chimie*.
- Bulletin des sciences pharmacologiques*.
- LÉPINE. — Sur l'action de l'extrait de capsules surrénales, *Semaine médicale*, 18 février 1903.
- LÉPINE et BOULUD. — *C. R. Académie des Sciences*, 12 janvier 1903.
- BATTELLI. — Notes à la Société de Biologie en 1902 et 1903.
- PAULY, *Berichte*, XXXVII, p. 1388.
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	4

CHAPITRE PREMIER

A. — Étude rétrospective des travaux sur les capsules surrénales.	3
Procédé Moore, 1895	6
— Abel, 1899	6
— Fürth, 1900.	7
— américain, 1901	7
— Battelli, 1902	8
— Abel (modification), 1902	9
B. — Propriétés chimiques de l'adrénaline.	9
Action de l'Iode en présence de KI.	12
Action de $Mn^{2+}O^{2-}K^2$	12
Dialyse.	13
Action du noir animal.	13
Action du $Fe^{2+}Cl^6$	14
Digestion <i>in vitro</i>	15
C. — Propriétés physiologiques de l'adrénaline . . .	16
Action sphymométrique	16
Emploi comme ischémiant des muqueuses	17
Action de l'extrait de capsules sur la température centrale	17
Action de l'extrait de capsules sur le métabolisme des	
hydrates de carbone	18
D. — Dosage colorimétrique (Battelli)	18
Expériences	20
Discussion.	22
Conclusions	23
Modification de ce dosage.	23

CHAPITRE II

A. — Préparation de l'extrait de capsules surrénales	25
Méthode au NaCl	26
— à SO_4H^2 et CO_3Ba	27
— combinée des deux précédentes.	27
Procédé à basse température.	27
Conservation des capsules par dessiccation	29
Procédé à l'autoclave	30
B. — Propriétés des liquides distillés dans le vide .	31
C. — Application au sang, à l'urine, au foie et au pancréas.	32
D. — Conservation de l'extrait	34
E. — Précipitation des principes actifs à l'état de bases.	35

CHAPITRE III

Hypothèses sur la constitution de l'adrénaline. . .	37
CONCLUSIONS	43
BIBLIOGRAPHIE.	45

